

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul “Pengaruh Pemberian Probiotik Kapang terhadap Profil Darah Putih Ayam Broiler yang Dipelihara dalam Kondisi Panas” dilaksanakan bulan Agustus – Oktober 2016 di Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Analisis leukosit dan diferensial leukosit dilakukan di Rumah Sakit Hewan Prof. Soeparno, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

3.1. Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 192 ekor *day-old-chick* (DOC) dengan rata-rata bobot awal $47,33 \pm 0,80$ gram. Kandang yang digunakan adalah tipe koloni dengan ukuran 1m x 1m x 1m sebanyak 24 petak berbahan dasar tripleks dan kayu dengan alas sekam. Peralatan dan perlengkapan kandang yang digunakan meliputi tempat pakan, tempat minum, termohigrometer untuk mengukur suhu dan kelembaban dalam kandang, lampu bohlam 60 watt sebagai pemanas, termostarter sebagai penstabil suhu, *air conditioner* (AC) dan blower. Peralatan pengambilan darah yang digunakan meliputi *sput* dan *vacutainer*.

3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian terdiri dari beberapa tahap, antara lain tahap persiapan (persiapan kandang, peralatan dan pembuatan pakan fermentasi kapang), tahap

pemeliharaan dan pemberian perlakuan, tahap pengambilan sampel dan analisis data dengan uji statistik.

3.2.1. Rancangan Percobaan

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan (T0, T1, T2, T3, T4, T5) dan 4 ulangan, dimana setiap unit percobaan diisi 8 ekor ayam broiler.

Perlakuan yang diberikan selama penelitian adalah :

- T0 : Suhu $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ tanpa anti stres
- T1 : Suhu $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ tanpa anti stres
- T2 : Suhu $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ + anti stres (*vita stress*)
- T3 : Suhu $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ + probiotik kapang *R. oryzae* (10g/kg pakan)
- T4 : Suhu $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ + probiotik kapang *C. crassa* (10g/kg pakan)
- T5 : Suhu $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ + bekatul (10g/kg pakan)

3.2.2. Tahap penelitian

Tahapan yang dilakukan yaitu persiapan, pemeliharaan dan pengumpulan data. Tahap persiapan meliputi persiapan kandang dan peralatan, pengapuran, fumigasi, desinfeksi, persiapan pakan termasuk pembuatan pakan fermentasi kapang *R. oryzae* dan *C. crassa*. Persiapan kandang dan peralatan dilakukan dengan membersihkan kandang, pembuatan *pen*, pemasangan instalasi listrik, melakukan pengapuran, fumigasi, serta desinfeksi kandang dan peralatan yang digunakan selama proses pemeliharaan. Kapang yang digunakan yaitu *R. oryzae* dan *C. crassa*. Pembuatan pakan fermentasi kapang *R. oryzae* dan *C. crassa*

diawali dengan peremajaan isolat *R. oryzae* dan *C. crassa* menggunakan media *potato dextrose agar* (PDA) dan diinkubasi pada suhu 38 °C selama 2 hari. Kapang *R. oryzae* dan *C. crassa* yang telah diinkubasi kemudian dikultur pada media *potato dextrose broth* (PDB) dan ditumbuhkan pada bahan pakan bekatul dengan metode *solid state fermentation*. Pemeraman dilakukan selama 4 hari dan tiap 2 hari dilakukan pengadukan. Bekatul yang telah ditumbuhi oleh kapang selanjutnya dikeringkan. Jumlah koloni pada probiotik *R. oryzae* dan *C. crassa* masing-masing adalah 1×10^7 cfu/g.

Tahap pelaksanaan penelitian meliputi tahap pemeliharaan ayam broiler selama 35 hari. Kegiatan tersebut diawali dengan penimbangan bobot DOC ayam broiler saat *chick in* dan penempatan ayam ke tiap *pen* masing-masing sebanyak 8 ekor. Ayam dipelihara sesuai dengan standar pemeliharaan ayam broiler yang berlaku di Indonesia sampai dengan ayam berumur 20 hari. Pakan yang digunakan selama penelitian yaitu pakan komersial merk BR-1 yang diberikan ketika ayam berumur 1-21 hari dan ketika ayam berumur 22-35 hari ayam diberi pakan komersial merk 201-C. Kedua pakan tersebut masing-masing merupakan produksi PT. Charoen Pokhpand Indonesia dan PT. Goldcoin Indonesia.

Tabel 1. Kandungan Nutrien Pakan BR-1 PT. Charoen Pokhpand Indonesia

Nutrien	Kandungan
Kadar Air (%)	13,0
EM (kcal/kg)	3.025,0
Protein (%)	23,0
Lemak (%)	5,0
Serat (%)	5,0
Abu (%)	7,0
Calcium (%)	0,9
Phosphor (%)	0,6

Tabel 2. Kandungan Nutrien Pakan 201-C PT. Goldcoin Indonesia

Nutrien	Kandungan
Kadar Air (%)	13,0
EM (kcal/kg)	3.225,0
Protein (%)	20,0
Lemak (%)	5,0
Serat (%)	5,0
Abu (%)	8,0
Calcium (%)	0,9
Phosphor (%)	0,6

Pemeliharaan ayam broiler dilakukan selama 35 hari. Ayam broiler diberi pakan dan minum secara *ad libitum*. Pada umur 4 hari ayam divaksin *Newcastle Disease* (ND) dengan cara tetes mata, pada umur 14 hari ayam divaksin *Infectious Bursal Disease* (IBD) melalui air minum dan pada umur 18 hari ayam divaksin ND melalui air minum, serta pada umur 24 hari kembali dilakukan vaksin IBD melalui air minum. Hari ke-20 dilakukan penimbangan dan penyeragaman bobot ayam broiler sebelum diberi perlakuan. Ayam dengan bobot badan yang relatif seragam kemudian ditempatkan ke dalam 6 kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 4 ulangan (*pen*). Tiap *pen* berisi 8 ekor ayam. Hari ke-21 dilakukan adaptasi ayam broiler terhadap perlakuan. Hari ke-22 ayam mulai diberi perlakuan sampai hari ke-31. *Vita stress* diberikan melalui air minum sesuai dosis yang tertera pada kemasan (1 gram/liter) yang dilakukan saat pengisian air minum, sedangkan masing-masing jenis probiotik dan bekatul diberikan melalui pencampuran pakan dengan dosis 10 g/kg pakan yang dilakukan sebelum pemberian pakan.

Parameter yang diukur yaitu profil darah putih (total leukosit, persentase heterofil, eosinofil, limfosit dan monosit). Hari ke-32 dilakukan proses

pengambilan darah melalui *vena brachialis* menggunakan *sput* kemudian ditampung dalam *vacutainer* EDTA, dilanjutkan dengan proses homogenisasi secara perlahan kemudian dimasukkan ke dalam *ice box*. Total leukosit dihitung dengan metode *Improve Neubauer*, sedangkan diferensial leukosit dihitung dengan metode preparat apus darah (hitung jenis leukosit).

3.3. Analisis Statistik

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh ditransformasi menggunakan akar kuadrat dan diolah secara statistik (anova) dengan taraf ketelitian 5 dan 1%. Apabila hasil F hitung menunjukkan pengaruh nyata perlakuan yang diberikan maka dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan (Steel dan Torrie, 1995). Model linier aditif sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} ; i = \text{perlakuan (1,2,3,4,5,6)} \quad j = \text{ulangan (1,2,3,4)}$$

Keterangan :

Y_{ij} = Jumlah leukosit dan kadar diferensial leukosit ayam broiler ke-j yang memperoleh perlakuan ke-i

μ = nilai tengah umum (rata-rata populasi) jumlah leukosit dan kadar diferensial leukosit ayam broiler

τ_i = pengaruh aditif dari perlakuan ke-i

ε_{ij} = perlakuan galat percobaan pada ayam broiler ke-j yang memperoleh perlakuan ke-i

3.3.1. Hipotesis Statistik

$H_0 : \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_6 = 0$; tidak ada pengaruh perlakuan pemberian probiotik kapang terhadap peningkatan total leukosit dan kadar diferensial leukosit ayam broiler.

$H_1 : \text{minimal ada satu } \tau_i \neq 0$; minimal ada satu perlakuan pemberian probiotik kapang yang mempengaruhi peningkatan total leukosit dan kadar diferensial leukosit ayam broiler.

3.3.2. Kriteria Pengujian

Jika $F_{\text{Hitung}} < F_{\text{tabel}} (5\%)$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak.

Jika $F_{\text{Hitung}} \geq F_{\text{tabel}} (5\%)$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.